

# Využití ekotoxikologických testů pro testování odpadních vod

## Use of Ecotoxicological Tests for Wastewater Testing

Ing. Jiří Pavlovský, Ph.D.<sup>1</sup>

Ing. Viola Hamplová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>VŠB - TU Ostrava, Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství  
17. listopadu 15, 708 33 Ostrava-Poruba

<sup>2</sup>VŠB - TU Ostrava, Hornicko-geologická fakulta  
17. listopadu 15, 708 33 Ostrava-Poruba  
jiri.pavlovsky@vsb.cz

### Abstrakt

Testování odpadních vod je důležité z pohledu ekotoxicity, aby byly zjištěny jejich případné toxické vlastnosti. V článku je proveden základní přehled nejvíce využívaných testů (akutní, semichronické a další), nejen pro odpadní vody, ale i pro půdy, strusky, popílky a podobně. V tomto článku jsou pak pro ukázkou diskutovány výsledky semichronické toxicity  $IC_{50}$  (50 % inhibiční koncentrace) na hořčici (*Sinapis alba* L.) na vybraný typ odpadní vody pocházející z průmyslu po 72 hodinách působení. Pro tuto odpadní vodu se zjistilo, že je velmi slabě toxická. Pro tuto odpadní vodu byly provedeny i dodatečné chemické analýzy.

### Klíčová slova

Hořčice, ekotoxicita, odpadní voda, hodnota  $IC_{50}$ .

### Abstract

Wastewater testing is important from the point of view of ecotoxicity in order to detect their potential toxic properties. In article is outlined an overview of the most frequently used tests (acute, semichronic and others) not only for wastewaters but also for soils, slags, fly ashes etc. In this paper, the results of semichronic toxicity of  $IC_{50}$  value (50 % inhibition concentration) on mustard (*Sinapis alba* L.) for the selected type of wastewater from the industry after 72 hours are discussed. This wastewater was found to be very poorly toxic. Additional chemical analyzes were performed for this wastewater.

### Keywords

Mustard, ecotoxicity, wastewater,  $IC_{50}$  value.

### Úvod

Ekotoxikologie je vědní obor, jenž se věnuje působení toxických látek nacházejících se v půdách, odpadních vodách, struskách, popílcích, kalech, výluzích stavebních odpadů a podobně, na organismy. Testům, především akutní toxicity (akvatické testy), se podrobují různé vodné výluhy. Testování na jednotlivých zástupcích živočichů se provádějí dle norem OECD, které jsou platné i v České republice a jsou identické s evropskými ISO normami. Jsou to testy na vyšších zelených rostlinách (semichronický test na hořčici bílé - *Sinapis alba* L.), na rybách (akutní test na rybě danio pruhovaném - *Brachydanio rerio* Buchanan-Hamilton), zooplanktonu (akutní test na hrotnatce velké - *Daphnia magna* Straus) a na fytoplanktonu (akutní test na zelené sladkovodní řase - *Desmodesmus subspicatus*) [1-5].

V rámci tohoto článku je ukáзка provedení testu semichronické toxicity hořčice bílé (*Sinapis Alba* L.) na jednom vybraném druhu vodného odpadu z Vítkovice Steel, a.s. po 72 hod. Rovněž byly provedeny i doplňující chemické analýzy k tomuto vybranému druhu vodného odpadu. Také je podán stručný přehled o nejvíce používaných testech na odpadních vodách, půdách a podobně.

### Teoretická část

Nejpoužívanějšími testy v ekotoxikologii jsou tři testy a to stanovení akutní toxicity na dafniích (hrotnatkách) *Daphnia magna* Straus (24 a 48 hod.) [3], akutní test na zelené řase *Desmodesmus subspicatus* (72 hod.) [4] a test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba* L.) [1]. Délka tohoto testu je 72 hod. Test na hořčici je možné aplikovat jako akvatický (vodní výluh), či terestrický - kontaktní (přímo testování na práškovém vzorku), jak popisuje Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů [5].

Testy akutní toxicity představují testování vlivu látek na obratlovce a planktonní organismy. Zjišťuje se úmrtnost a imobilizace organismu při  $t = 20 \pm 2$  °C. Doba testu se pohybuje v rozmezí krátké doby. Například pro dafnie je čas testování 24 a 48 hodin, pro potkany tři dny a déle. Poté se stanovuje hodnota letální koncentrace  $LC_{50}$ , či efektivní koncentrace  $EC_{50}$  [3]. Efektivní koncentrace nemusí značit úmrtnost, ale i znehybnění či omezený pohyb. Velmi zajímavým testem je test na zhášení bioluminiscence bakterie *Vibrio fischeri*, což je metoda na stanovení toxického účinku látek na tuto fotoaktivní bakterii. Podstatou testu je porovnání bioluminiscence bakterie před a po expozici toxickou látkou. Na testování se používá mořská bakterie *Vibrio fischeri*. V ČR se nejčastěji používá metoda dle ISO 11348-2. *Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) - Part 2: Method using liquid-dried bacteria*, 2007 [6], pracuje se na luminometru při 15 °C. Sledovaným parametrem je snížení luminiscence těchto bakterií, které se měří tzv. luminometrem, po době expozice 15 a 30 minut, či 5 minut, což je však málo využíváno. Jedná se o velmi rychlou moderní metodu stanovení akutní toxicity, která je ve světě už hojně využívána. Právě vodné výluhy strusek, popílků, kalů a podobně, jsou vhodné ke zjišťování toxicity vzorků těmito třemi ekotoxikologickými testy, a jak bude uvedeno dále v přehledu.

Odpadní voda je voda, která změnila svou jakost během použití. Základní dělení odpadních vod je na komunální a průmyslovou odpadní vodu, přičemž průmyslová odpadní voda vzniká z technologických procesů a z chladicích médií a má rozmanitý charakter. Odpadní voda povětšinou obsahuje nečistoty, jakými jsou například suspendované látky, rozpuštěné, nerozpuštěné a koloidní látky.

V tab. 1 je uveden přehled nejvíce používaných testů pro hodnocení toxicity vodných výluhů, výluhů půd, půd, strusek, stavebních a vodných odpadů, popílků, pěn, biocharů, grafenů, grafen(oxidů).

### Použité materiály, přístroje a chemikálie

Jako materiály byly použity semena hořčice bílé (AROS - osiva s.r.o.) a odpadní voda z ošťřikového okruhu z kontilit (Vítkovice Steel, a.s.). Na přípravu standardních roztoků v ředicím roztoku od 0 do 320 mg/l byl použit  $K_2Cr_2O_7$ , p.a. (Merci s.r.o.) v původní koncentraci 1 g/l, který byl následně naředěn. Pro přípravu ředicího roztoku, který sloužil na přípravu jednotlivých roztoků byly použity  $CaCl_2$ , p.a. (PENTA s.r.o.),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , p.a. (LACHEMA),  $NaHCO_3$ , p.a. (MACH CHEMIKÁLIE s.r.o.) a KCl, p.a. (PENTA s.r.o.). Postup přípravy ředicího roztoku je dán v Metodickém pokynu [1].

Ke stanovení jednotlivých chemických parametrů byly použity: pH metr k měření pH - HANNA instruments, typ HI 2210, ke stanovení kovů metodou AAS - přístroj VARIAN AA 280FS, ke stanovení Hg AAS metodou studených par - VARIAN AA 280Z, konduktivita - WTW Multi 3420 SET C, absorbance na vypočítání  $CHSK_{Cr}$ ,  $CHSK_{Mn}$ , DOC - Shimadzu UV - 1601, pro měření  $NO_3^-$  - Shimadzu UV - 1800 a pro měření  $NH_4^+$  - pH metr WTW InoLab (třibodová kalibrace na WTW pufrů pH 4,01, pak 7,00 a 10,00). Sigmoidy byly vytvořeny v programu Origin 6.1.

Tab. 1 Nejvíce používané testy pro hodnocení toxicity vodných výluhů, výluhů půd, půd, strusek, stavebních a vodných odpadů, popílků, pěn, biocharů, grafenů, grafen-oxidů

Organismus	Popis	Latinský název	Test - typ	Doba a teplota experimentu, osvětlení	Použití	Výhody testu	Novýhody testu	Literatura	Úprava pH, další informace
zelená řasa Třeboňská Chlorella SP (Chlorella sp. = species)	sladkovodní jednobuněčná řasa	<i>Chlorella</i> sp.	inhibice (stimulace) růstu jednobun. řasy	24, 48 a 72 hod., EC50 (0-72 hod.), 20-25 °C, termostát 8000 - 10000 lux	a-c	citlivost k toxickým látkám, přesnost	náročnost, vyžaduje preciznost, drahý, delší doba testu	[4,5,8]	pH = 7,5
zelená řasa 86,81 SAG	sladkovodní jednobuněčná řasa	<i>Scenedesmus subspicatus</i> , části <i>Desmodesmus subspicatus</i>	akutní, inhibice (stimulace) růstu jednobun. zelené sládk. řasy	24, 48, 72, 96 hod. (Deam. s.) EC50 (0-72 hod.), 20-25 °C 8000 - 10000 lux	a-f	citlivost k toxickým látkám, přesnost	náročnost, vyžaduje preciznost, drahý, delší doba testu	[4,5,8]	pH = 7,5
<i>Vibrio fischeri</i>	luminescenční bakterie	<i>Vibrio fischeri</i>	inhibice bioluminis- cence bakterií	15 a 30 minut, či 5 minut, EC50 <sub>15, 30 min.</sub> , 15±0,5 °C, bez osvětlení v termostatu	a, c-g	rychlost, přesnost, citlivost k toxickým látkám	náročnost na preciznost, drahý test	[6,7]	pH cca 8
hrotnatka velká ( <i>D. magna</i> ) bezobratlý živočich, (perloočko, dafiňe), hrotnatka obecná ( <i>D. pulex</i> ), žábroňožka slánisková ( <i>Artemia salina</i> )	vodní bezobratlý živočich, korýš obecná ( <i>D. pulex</i> ), žábroňožka slánisková ( <i>Artemia salina</i> )	<i>Daphnia magna</i> <i>Straus</i> , <i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia pulex</i> , <i>Artemia salina</i>	akutní- imobilizace a úmrtnost jedinců, navíc pro chronický- reprodukci, velikost a počet dafiň	EC50 <sub>24</sub> , 24 a 48 hod. ( <i>D. magna</i> Straus), bez úpravy pH 20±2 °C, bez osvětlení v termostatu nebo s osvětlením (16 hod. světlo/8 hod. tma), chronický-21 dní, 20±2 °C, s osvět. (16 hod. světlo/8 hod. tma), EC50	a-f	rychlost, citlivost k toxickým látkám, levný, dobrá a rychlá reprodukce a kultivace, rychlý cyklus množení, nenáročný	delší doba	[3,5,8,9]	potrava ryb, pH = 6-9 (chronický), měřit teplotu, obsah rozpuštěného kyslíku během experimentů, tvrdost (akutní), u chronického testu 1x týdně
hořčice bílá, odrůda Severka apod.	medonosná rostlina, pochutina	<i>Sinapis alba</i> L.	semichronický, elongace kořene či stimulace, chronický (21 dnů i více)	72 hod., 20±1 °C, bez osvět. v termostatu, chronický-hm, biomasy, výška rostliny	a-f, jako terestrický test (a, b, e, f, h, i)	levný, robustní	časová náročnost, nižší citlivost	[1,5,10,12]	pH = 7,8
salát hlávkový, odrůda Šafir	listová zelenina	<i>Lactuca sativa</i> L.	semichronický, elongace kořene či stimulace	72 hod., 20±1 °C, bez osvět. v termostatu, 96 hod. pro půdy bez osvět. v termostatu	a-f, jako terestrický test (a, b, e, f, h, i)	levný, robustní	časová náročnost, nižší citlivost	[1,5,10,11]	pH = 7,8
řepicha setá	listová zelenina a bylina	<i>Lepidium sativum</i>	semichron., elongace kořene či stimulace	72 hod., 20±1 °C, bez osvět. v termostatu, 96 hod. pro půdy bez osvět. v termostatu	a-f, jako terestrický test (a, b, e, f, h, i)	levný, robustní	časová náročnost, citlivost	[5,10]	pH = 7,8
žížala hnojní	kroužkovec	<i>Eisenia fetida</i>	mortalita, akutní, chronická (14 a 56 dní-mortalita, růst a reprodukce)	14 dní mortalita, 56 dní reprodukce, 24 a 48 hod., 20±1 °C, bez osvětlení, LC50	b, f (navlhčené), či přírodní b	levný, nenáročný	horší citlivost, delší doba	[13]	pH = 7
okřehek menší	jednoděložná rostlina	<i>Lemna minor</i> L.	semichron., počet lístků, růstová rychlost, chloróza, nekróza, množství biomasy, plocha pod růst. křivkou, obsah chlorofylů (a, b, celk.), obsah pigmentů	IC50, 7 dní, 10 000 lux, 24±2 °C	a-f, jako terestrický test (a, b, e, f, h, i)	přesný, citlivost k toxickým látkám	časově náročný	[5,14]	pH = 8
čibule (odrůda Stuttgart)	rostlina, kořenová zelenina	<i>Allium cepa</i> L.	semichronický, genotoxicita (stadia mitózy)	IC50, 72 hod., světlý režim (16 hod. světlo/8 hod. tma), 20±1 °C	a-f, jako terestrický test (a, b, e, f, h, i)	vysoká citlivost k toxickým látkám, dobrá cena testu	časově i fin. náročnější testov. genotoxicity	[5,10]	pH = 8
niténka obecná	kroužkovec, máločlenný	<i>Tubifex tubifex</i>	akutní, úmrtnost	LC50, 3 min., 1-96 hod., 20±2 °C, přirozené denní světlo	a, c-f, b s vysokým obsahem těžkých kovů	levný, nenáročný, rychlý	málo citlivý na odpadní vody bez obsahu těžkých kovů	[13]	pH = 7
salmonella	bakterie	<i>Salmonella typhimurium</i>	genotoxicita	mutov. gen. umožň. syntet. Histidin (HS), bakt. získává schopnost autonomně syntet. HS a přežívá	b, d, j	vysoce citlivý k toxickým látkám	drahý, časově náročný	[15]	pH = 7

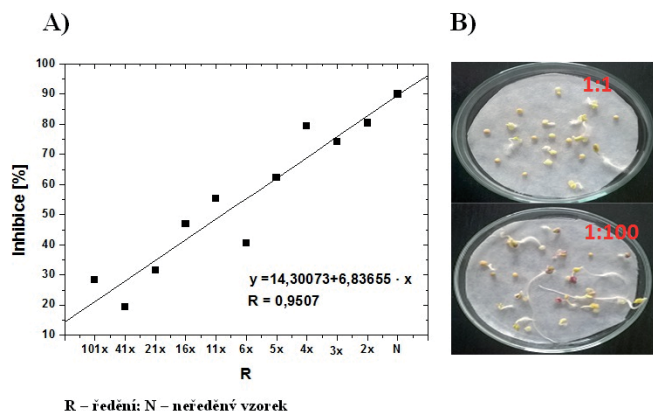
a – struska, b – půda, c – odpadní voda, d – vodné výluhy (obecně), e – popílek, f – stavební odpad, g – hasičská pěna, h – biochar, i – grafen(oxid), j – potraviny

Vlastní semichronický test toxicity na hořčici bílé lze popsat následovně. Přebírá semínka hořčice bílé (dodržení shodné velikosti, vyřazení poškozených, černých, hnědých a jinak poškozených semínek). Příprava roztoků o daných koncentracích K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (standard) - od 0 do 320 mg/l a daných ředění vzorku odpadní vody: neředěný vzorek; 1:1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:40; 1:100 a slepý roztok (kontrola). Rozpipetování standardů s ředicím roztokem do každé Petriho misky (2,5 ml). Sazení semínek do připravených Petriho misek (3x po 20 semenech pro každou koncentraci) včetně paralelního stanovení. Vytvoření

podmínek pro test:  $t = 20 \pm 2$  °C; tma; 72 hodin působení v termostatu. Po uplynutí testu 72 hodin, měření délky kořinek (elongace kořene). Stanovení hodnoty IC<sub>50</sub> z lineární (popř. sigmoidální) závislosti.

## Výsledky a diskuze

Byla zjištěna toxicita odpadní vody a další parametry měření pro semichronický test na hořčici bílé. Test byl nejprve proveden na standardu dichromanu draselném.



Obr. 1A Závislost inhibice na ředění odpadní vody pro hořčici bílou,  $20 \pm 1$  °C, 72 hod., semichronický test, B) ukázka růstu kořínků hořčice bílé na odpadní vodě pro velké zředění (1:100) a zředění 1:1, 72 hod.,  $20 \pm 1$  °C

Na obr. 1A lze vidět závislost inhibice na ředění odpadní vody pro hořčici bílou,  $20 \pm 1$  °C, 72 hod., semichronický test, obr. 1B je pak ukázka růstu kořínků hořčice bílé na odpadní vodě pro velké zředění (1:100) a zředění 1:1, 72 hod.,  $20 \pm 1$  °C. V tab. 2 jsou pak uvedeny nejdůležitější vybrané chemické parametry odpadní vody.

Tab. 2 Vybrané chemické parametry odpadní vody

Odpadní voda							
pH	vodivost [mS/cm]	suma $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	CHSK <sub>Cr</sub> [mg O/l]	CHSK <sub>Mn</sub> [mg O/l]	DOC [mg C/l]	$\text{NO}_3^-$ [mg/l]	$\text{NH}_4^+$ [mg/l]
7,9	1899	8,18	109,95	38,48	43,98	390	1,8

CHSK<sub>Cr, Mn</sub> - chemická spotřeba kyslíku na dichroman draselný, manganistan draselný, DOC - celkový obsah uhlíku.

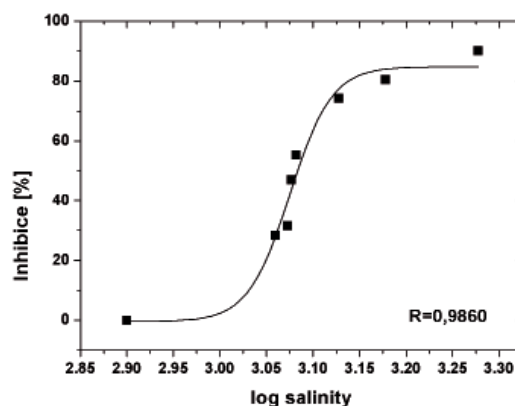
Porovnáním výsledné hodnoty pro standard dichroman draselný  $\text{IC}_{50} = (50,05 \pm 1,24)$  mg/l, zjištěné ze sigmoidy, bylo zjištěno, že hodnota  $\text{IC}_{50}$  byla v dobré shodě s tabelovanou hodnotou  $\text{IC}_{50}$  (53,18  $\pm$  0,02) mg/l. Výsledná hodnota  $\text{IC}_{50}$  i když se mírně liší, byla v rozsahu, který je udáván 50-80 mg/l [1]. Hodnota  $\text{IC}_{50}$  pro odpadní vodu je při ředění 5,2 krát.  $\text{IC}_{50}$  72 hod., *Sinapis alba* L. = 9,62 ml/50 ml. Inhibice pro odpadní vodu byly tyto: kontrola-0 %, 101x ředěno-28,40 %, 41x ř.-19,42 %, 21x ř.-31,48 %, 16x ř.-46,95 %, 11x ř.-55,39 %, 6x ř.-40,52 %, 5x ř.-62,36 %, 4x ř.-79,37 %, 3x ř.-74,21 %, 2x ř.-80,40 % a neředěný vorek-90,02 %. Odpadní voda obsahuje kovy (stanoveno metodou AAS), jak je patrné z tab. 3A, včetně hodnot  $\text{IC}_{50}$  pro tyto kovy. Pb a Cd nebyly v odpadní vodě přítomny.

Tab. 3A) Obsah kovů (z AAS) a hodnoty  $\text{IC}_{50}$  pro semichronický test na hořčici bílé, 72 hod.,  $20 \pm 1$  °C, pro kovy v odpadní vodě a B) třídy toxicity

Prvek	Obsah [mg/l]	$\text{IC}_{50}$ [μg/l]
Na	154	14838,84 $\pm$ 1,25
K	30	2289,81 $\pm$ 1,15
Ca	57,5	6487,84 $\pm$ 1,26
Mg	164	14105,87 $\pm$ 1,36
Zn	0,22	14,93 $\pm$ 1,32
Fe	0,428	29,40 $\pm$ 1,25
Cu	0,04	4,44 $\pm$ 1,25
Hg	0,006	1,03 $\pm$ 1,31

Pb a Cd - nulový obsah

Třída	Koncentrační rozsah [mg/l]	Hodnocení
0	$\geq 10^4$	netoxická
1	$10^3-10^4$	velmi slabě toxická
2	$10^2-10^3$	slabě toxická
3	$10^1-10^2$	středně toxická
4	$10-10^1$	silně toxická
5	$10^{-1}-10$	velmi silně toxická
6	$\leq 10^{-1}$	mimořádně toxická



Obr. 2 Sigmoidální závislost inhibice na log salinitu odpadní vody pro semichronický test na hořčici bílé,  $20 \pm 1$  °C, 72 hod.

Hodnota  $\text{IC}_{50, \text{salinita}}$  pro odpadní vodu je (1189,05  $\pm$  1,01) mg/l pro semichronický test na hořčici bílé,  $20 \pm 1$  °C, 72 hod. (obr. 2). Pro odpadní vodu byla následně hodnota  $\text{IC}_{50}$  pro salinitu porovnána s tabulkou tříd toxicity (tab. 3B). Bylo zjištěno, že odpadní voda je velmi slabě toxická (třída 1). Pro danou odpadní vodu bylo stanoveno, že 50 % inhibice nastává při ředění 5,2 krát, odpadní voda má vyšší hodnoty CHSK<sub>Cr</sub>, CHSK<sub>Mn</sub> a DOC. Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  u kovů i u salinity jsou nižší. Hodnota pH je 7,9 a jedná se o velmi slabě toxickou odpadní vodu. Výsledek testu měl přiblížit, jak by mohly působit tyto odpadní vody na životní prostředí, například v případě úniku těchto vod z ocelárenského průmyslu a také rozšířit poznatky působení na životní prostředí těchto vod z pohledu semichronické toxicity.

## Závěr

Byl stanoven semichronický test na hořčici bílé na vybrané odpadní vodě z průmyslu po 72 hod. a byla určena hodnota  $\text{IC}_{50}$ , včetně provedení tohoto testu na standardu dichromanu draselném. Bylo poukázáno na toxicitu odpadní vody, která pak dále směřuje do ČOV a vliv této odpadní vody na vyšší rostliny. Bylo stanoveno, že odpadní voda byla slabě toxická. Další možnosti zjišťování toxicity je na živých organismech, především na drobných korýších, kteří jsou velmi vhodní pro stanovení akutní toxicity. Testy akutní toxicity mohou být tedy velmi vhodné pro průmyslové odpadní vody, vody z řek, potoků, a doplnit tak významně ekotoxikologické testování.

## Poděkování

Tento článek vzniknul na Fakultě metalurgie a materiálového inženýrství při řešení projektu č. LO1203: "Regionální materiálové technologické výzkumné centrum - Program udržitelnosti", financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

## Použitá literatura

- [1] Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba* L.). Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů.
- [2] ČSN EN ISO 7346 - 2. Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) - Část 2: Obnovovací metoda. 1999.
- [3] ISO 6341. Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. Brusel, 2012.
- [4] ČSN EN ISO 8692. Kvalita vod - zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas. 2004.
- [5] Věstník MTP č. 4/2007 Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. METODICKÝ POKYN ODBORU ODPADŮ KE STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ. Ministerstvo životního prostředí České republiky, Praha 11/2007.
- [6] ISO 11348-2. Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) - Part 2: Method using liquid-dried bacteria, 2007.
- [7] RYBKOVÁ, T.: *Hodnocení toxicity hasebních vod*. Brno, 2010. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [8] VERMA, Y.: Acute toxicity assessment of textile dyes and textile and dye industrial effluents using *Daphnia magna* bioassay. *Toxicology and Industrial Health*, 2008, (24), 491-500.
- [9] SORGELOOS, P. et al.: Use of the brine shrimp, *Artemia salina* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 2001, 200 (1-2), 147-159.
- [10] KOČÍ, V.; MOCOŮVÁ, K.; KULOŮVÁ, M.; VOSÁHLŮVÁ, S.: Phytotoxicity tests of solid wastes and contaminated soils in the Czech Republic. *Environmental Science and Pollution Research*. 2010, (3), 611-624.
- [11] ISO 17126 (2005): Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Screening test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.).
- [12] ROUPCOVÁ, P.; KLOUDA, K.; PAVLOVSKÝ, J.J.: Příspěvek k monitorování ekotoxicity u uhlíkatých nanočástic na bázi grafenů. Konference: *Bezpečnost a ochrana zdraví při práci 2016*. Sepetná 13.-14. duben 2016, 74-77.
- [13] TICHÝ, M.; ROTH, Z.; BLÁHA, K.; WORTH, P.A. 2005.: Alternativní metody testování toxicity chemických látek in silico. *Chemické listy*. 99(10), 675-681.
- [14] MOODY, M.; MILLER, J.: (2005) *Lemna Minor Growth Inhibition Test*. In: Blaise C., Féraud J.F. (eds) *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations*. Springer, Dordrecht.
- [15] MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. (2000): "The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay". *Mutat. Res.* 455 (1-2): 29-60.